



केरेबो-केन्द्रीय रेशम जनन्द्रव्य संसाधन केन्द्र

CSB-Central Sericultural Germplasm Resources Centre

केन्द्रीय रेशम बोर्ड, वस्त्र मंत्रालय, भारत सरकार, होसुर, तमिलनाडु 635109
Central Silk Board, Ministry of Textiles, Govt. of India, Hosur, Tamil Nadu



अजैविक तनाव के विरुद्ध क्षेत्र-विशिष्ट आशाजनक
रेशमकीट परिग्रहण
REGION-SPECIFIC PROMISING SILKWORM
ACCESSIONS FOR ABIOTIC STRESS

A commemorative publication on Platinum Jubilee of Central Silk Board



संपादन/Edited by

डॉ. जी. लोकेश / Dr. G. Lokesh, Scientist-D

डॉ. ऋत्विका सुर चौधरी / Dr. Ritwika Sur Chaudhuri, Scientist-C

डॉ. जी. पुनीतावती / Dr. G. Punithavathy, Scientist-D

संकलन/ Compiled by

डॉ. जी. लोकेश / Dr. G. Lokesh

हिन्दी अनुवाद/ Hindi Translation

डॉ. ऋत्विका सुर चौधरी/ Dr. Ritwika Sur Chaudhuri

प्रकाशन/ Published by

निदेशक / Director

केरेबो- के.रे.ज.सं.के, होसुर/ CSB-CSGRC, Hosur

सितम्बर/September, 2024

केंद्रीय रेशमकीट जननद्रव्य संसाधन केंद्र रेशमकीट जननद्रव्य संसाधनों के संरक्षण का बुनियादी केंद्र है। वर्तमान में, 14 देशों और देश के विभिन्न रेशम उत्पादन क्षेत्रों का प्रतिनिधित्व करने वाले 489 रेशमकीट आनुवंशिक संसाधन केंद्र में रखे गए हैं। संरक्षित द्विप्रज रेशमकीट परिग्रहणों को अजैविक तनाव सहनशीलता की जांच और पहचान के लिए चुना गया था। प्रारंभिक जाँच आर्थिक मापदंडों के आधार पर की गई- उपज/10000 डिम्बक (संख्या के अनुसार), उपज/10000 डिम्बक (वजन के अनुसार-किलो), प्यूपेशन दर %, एकल कोश वजन (ग्राम), एकल शैल वजन (ग्राम) और शैल अनुपात %, औसत रेशा लंबाई और डेनियर, एवं बेहतर उत्पादक/जीवित रहने की विशेषताओं वाले चालीस द्विप्रज परिग्रहणों की अल्पसूची की गई।

चयनित द्विप्रज रेशमकीट परिग्रहणों की सूची

बीबीई-0026 (NAN NAUNG 6D), बीबीई-0030 (SANISH E1-P), बीबीआई-0044 (NB4D2), बीबीआई-0086 (KPG-A), बीबीआई-0133 (AT-4), बीबीआई-0137 (IB-9), बीबीई-0167 (KYORIESHIM-PAKU-P), बीबीई-0183 (CSGRC-1), बीबीई-0184 (CSGRC-2), बीबीई-0187 (CSGRC-5), बीबीई-0197 (A), बीबीई-0222 (JC2M), बीबीई-0272 (G146), बीबीआई-0299 (NS6), बीबीआई-0301 (YS7), बीबीआई-0303 (KSO-1), बीबीआई-0334 (APS-4), बीबीआई-0336 (APS-8), बीबीआई-0338 (DD-1), बीबीआई-0339 (DD-2) बीबीआई-0341 (NK-1), बीबीआई-0342 (NK-2), बीबीआई-0343 (NK-3), बीबीआई-0344 (NP-4), बीबीआई-0345 (NP-5), बीबीआई-0346 (KSO-2), बीबीआई-0347 (KSO3), बीबीआई-0349 (HND), बीबीआई-0350 (HDO), बीबीआई-0358 (CSR-26), बीबीआई-0359 (CSR-27), बीबीआई-0360 (A3), बीबीआई-0361 (A-CHINESE), बीबीआई-0363(BHT), बीबीआई-0364 (GHT), बीबीआई-0367 (H-281), बीबीआई-0369 (935 E), बीबीआई-0370 (SL WU-8), बीबीआई-0377 (APS-12), बीबीआई-0378 (APS-45).

एसएसआर द्वारा द्विप्रज परिग्रहण की आणविक जांच

विभिन्न जीन-बिन्दुपथों का प्रतिनिधित्व करने वाले पहले से सुशोभित माइक्रोसैटेलाइट रिपीट से रेशमकीट के सरल अनुक्रम दोहराव (एसएसआर) मार्करों के चार जोड़े का उपयोग करके चालीस शॉर्टलिस्ट किए गए परिग्रहण की जांच की गई थी, पीसीआर प्रवर्धन एक थर्मल साइक्लर (एप्पेंडॉर्फ-नेक्सस ग्रेडिएंट साइक्लर) पर किया गया था। पीसीआर को 5 मिनट के लिए 94°C पर प्रारंभिक विकृतीकरण चरण, 30 सेकंड के लिए 94°C पर विकृतीकरण चरण, 1 मिनट के लिए 60°C पर एनीलिंग चरण और 30 के लिए 1 मिनट के लिए 72°C पर विस्तार चरण के साथ किया गया था। 10 मिनट के लिए 72°C पर अंतिम बढ़ाव चरण के बाद चक्र। पीसीआर उत्पादों को 2% एगारोज जेल में हल किया गया और थर्मो-सहिष्णुता से जुड़े मार्करों की उपस्थिति के लिए विश्लेषण किया गया।

Central Sericultural Germplasm Resources Centre is the nodal centre for conservation of Silkworm germplasm resources. At present, 489 silkworm genetic resources representing 14 countries and different sericultural regions of the country are maintained at the centre. The bivoltine silkworm accessions conserved were selected for the screening and identification of abiotic stress tolerance. Initial screening was carried out based on the economic parameters viz., Yield/10000 larvae (by no.), Yield/10000 larvae by wt. (kg), Pupation rate %, Single cocoon wt. (g), Single shell wt. (g) and Shell ratio %, Average filament length and denier and forty bivoltine accessions with better productive/ survival traits were shortlisted.

List of selected bivoltine silkworm accessions

BBE-0026 (NAN NAUNG 6D), BBE-0030 (SANISH E1-P), BBI-0044 (NB4D2), BBI-0086 (KPG-A), BBI-0133 (AT-4), BBI-0137 (IB-9), BBE-0167 (KYORIESHIM-PAKU -P), BBE-0183 (CSGRC-1), BBE-0184 (CSGRC-2), BBE-0187 (CSGRC-5), BBE-0197 (A), BBE-0222 (JC2M), BBE-0272 (G146), BBI-0299 (NS6), BBI-0301 (YS7), BBI-0303 (KSO-1), BBI-0334 (APS-4), BBI-0336 (APS-8), BBI-0338 (DD-1), BBI-0339 (DD-2) BBI-0341 (NK-1), BBI-0342 (NK-2), BBI-0343 (NK-3), BBI-0344 (NP-4), BBI-0345 (NP-5), BBI-0346 (KSO-2), BBI-0347 (KSO3), BBI-0349 (HND), BBI-0350 (HDO), BBI-0358 (CSR-26), BBI-0359 (CSR-27), BBI-0360 (A3), BBI-0361 (A-CHINESE), BBI-0363(BHT), BBI-0364 (GHT), BBI-0367 (H-281), BBI-0369 (935 E), BBI-0370 (SL WU-8), BBI-0377 (APS-12), BBI-0378 (APS-45).

Molecular screening of bivoltine accessions using SSRs

Forty shortlisted accessions were screened using four pairs of Simple Sequence Repeat (SSR) markers of silkworm from previously well characterized microsatellite repeats representing different gene loci, The PCR amplification was performed on a thermal cycler (Eppendorf- Nexus gradient cycler). The PCR was performed with an initial denaturation step at 94°C for 5 min, a denaturation step at 94°C for 30 sec, annealing at 60°C for 1 min, and an extension step at 72°C for 1 min for 30 cycles followed by a final elongation step at 72°C for 10 min. The PCR products were resolved in 2% agarose gel and analyzed for the presence of markers associated with thermo-tolerance.

ताप सहिष्णुता के लिए चयनित प्राइमरों का विवरण

प्राइमर का नाम	बिन्दुपथ	अनुक्रम 5' - 3'	स (बीपी)	अ (बीपी)
1123	LFL1123	FP-AAGTTCTTTACCAAGTTACAGACAGC RP-CGCCATGCAACTGTCGTAC	230	250
0329	LFL0329	FP-GAAATCCGTTTGAAGAATCCACA RP-CATCCGTTGAATGAGTATCGTTTG	200	230
S0809	LFL0407	FP-AACATTTGCTTAGGACTGAATTTACAC RP-AATAATAACTTTTACACGCACCTACACTT	230	200
S0813	S0813	FP-CCAGGAAATTCACACCAGTAGCC RP-ACTTACCACTACACCAGACGGAC	520	500

स=सहिष्णु एलील आकार, S=अतिसंवेदनशील एलील आकार

मार्कर-सहित स्क्रीनिंग के आधार पर, दस बाइवोल्टाइन रेशमकीट परिग्रहणों में थर्मो टॉलरेंट मार्करों की उपस्थिति देखी गई, यानी अंडाकार कोकून घूमने वाले परिशिष्ट (बीबीआई-0086, बीबीआई-0184, बीबी-0301, बीबीआई-0339) और डंबल कोकून कातने वाले परिशिष्ट (बीबीआई) -0044, बीबी-0334, बीबी-0336, बीबी-0338, बीबी-0343, बीबी-0358)। इन चयनित थर्मो-सहिष्णु पहुंच को देश के विभिन्न रेशम उत्पादन क्षेत्रों में फार्म परीक्षण (ओएफटी) के माध्यम से आगे मान्य किया गया।

ऑन फार्म परीक्षण

चयनित रेशमकीट परिग्रहण (4 ओवल परिग्रहण और 6 डंबिल परिग्रहण) का मूल्यांकन विभिन्न कृषि-जलवायु स्थितियों जैसे आरएसआरएस, जम्मू और आरईसी चित्रदुर्ग - उच्च तापमान पर अजैविक तनाव के खिलाफ किया गया था; कम नमी; आरएसआरएस जम्मू और सीएसआरटीआई, बरहामपुर - मध्यम तापमान और उच्च आर्द्रता और चयनित गर्म स्थानों में उपयोग के लिए उपयुक्त बाइवोल्टाइन परिग्रहण की पहचान की गई।

नतीजा

विभिन्न कृषि-जलवायु क्षेत्रों में मूल्यांकित बाइवोल्टाइन परिग्रहण के समग्र प्रदर्शन ने स्पष्ट रूप से संकेत दिया कि पांच रेशमकीट परिग्रहण, अर्थात् BBI-0184, BBI-0301, BBI-0336, BBI-0338 और BBI-0339 का उपयोग अजैविक तनाव सहिष्णुता के लिए विभिन्न गर्म क्षेत्रों में किया जा सकता है और प्रतिकूल जलवायु परिस्थितियों के दौरान बेहतर उत्पादकता के लिए संकर रेशमकीट के विकास के लिए पैतृक सामग्री के रूप में उपयुक्त थे।

Details of selected primers for thermotolerance

Primer Name	Locus	Sequence 5' - 3'	T (bp)	S (bp)
1123	LFL1123	FP-AAGTTCTTTACCAGTTCACAGACAGC	230	250
		RP-CGCCATGCAACTGTCGTCAC		
0329	LFL0329	FP-GAAATCCGTTTGAAGAATCCACA	200	230
		RP-CATCCGTTGAATGAGTATCGTTTG		
S0809	LFL0407	FP-AACATTTGCTTAGGACTGAATTTACAC	230	200
		RP-AATAATAACTTTTACACGCACCTACACTT		
S0813	S0813	FP-CCAGGAAATTCCAACCAGTAGCC	520	500
		RP-ACTTACCACTACACCAGACGGAC		

T=Tolerant allele size, S=Susceptible allele size

Based on the marker-assisted screening, ten bivoltine silkworm accessions showed the presence of thermo tolerant markers *i.e.* the accessions spinning oval cocoons (BBI-0086, BBE-0184, BBI-0301, BBI-0339) and the accessions spinning dumbbell cocoons (BBI-0044, BBI-0334, BBI-0336, BBI-0338, BBI-0343, BBI-0358). These selected thermo-tolerant accessions were further validated through on farm trial (OFT) in different sericulture regions of the country.

On Farm Trial (OFT)

Selected silkworm accessions (4 Oval accessions and 6 dumbbell accessions) were evaluated against abiotic stress at different agro-climatic conditions viz., **RSRS, Jammu and REC Chitradurga** - High temperature; low humidity; **RSRS Jammu and CSRTI, Berhampore** - Moderate temperature and high humidity and identified suitable bivoltine accessions to exploit in the selected hot spots.

Outcome

Overall performance of the evaluated bivoltine accessions at different agro-climatic regions clearly indicated that five silkworm accessions, viz. BBE-0184, BBI-0301, BBI-0336, BBI-0338 and BBI-0339 can be exploited in different hotter zones for abiotic stress tolerance and were suitable as parental materials for the development of hybrid silkworms for improved productivity during unfavourable climatic conditions.

स्थान/ Location	परिग्रहण सं /Accession no.		
अ.वि.कें., चित्रदुर्ग/ REC Chitradurga Karnataka	बीबीआई/BBI-0338 बीबीई/BBE-0184		
क्षे.रे.अ.के., जम्मू/ RSRS Jammu, J& K	बीबीआई/BBI- 0336 बीबीआई/BBI- 0339		
कें.रे.अ.प्र.सं., बरहमपुर/ CSR&TI, Berhampore West Bengal	बीबीआई/BBI- 0338 बीबीआई/BBI- 0301		
के.रे.ज.सं.के., होसुर/ CSGRC Hosur Tamilnadu	बीबीआई/BBI- 0336 बीबीआई/BBI- 0339		



सेरी-जैव विविधता हमारी राष्ट्रीय विरासत है; इसे भावी पीढ़ी के लिए सुरक्षित रखें
Seri-biodiversity is our national heritage; Conserve it for posterity